

⑫ 公開特許公報(A) 平1-213213

⑤Int.Cl.⁴ A 61 K 7/00 7/06 7/48 31/725 35/78 37/00
 // C 08 B 37/00
 識別記号 ADA
 庁内整理番号 K-7306-4C 7430-4C 6971-4C 7431-4C 8413-4C Q-6779-4C
 ③公開 平成1年(1989)8月28日
 審査請求 未請求 請求項の数 4 (全8頁)

⑭発明の名称 外用剤組成物

⑯特 願 昭63-39226

⑰出 願 昭63(1988)2月22日

⑱発明者 岡村 紀子 東京都練馬区南大泉3-8-6
 ⑱発明者 齊藤 和美 東京都江戸川区本一色3-26-11 コーポセブン201号
 ⑱発明者 武馬 吉則 東京都北区西ヶ原4-63-10
 ⑱発明者 鈴木 敏幸 千葉県市川市本北方1-5-8
 ⑲出願人 花王株式会社 東京都中央区日本橋茅場町1丁目14番10号
 ⑳代理人 弁理士 有賀 三幸 外2名

明 細 書

1. 発明の名称

外用剤組成物

2. 特許請求の範囲

1. ポリアンテス属(Polianthes L.)に属する植物より得られる、アラビノース、マンノース、ガラクトース、キシロースおよびグルクロン酸を構成成分とする酸性ヘテロ多糖類を含有することを特徴とする外用剤組成物。
2. ポリアンテス属に属する植物がチューベローズ(Polianthes tuberosa L.)である第1項記載の外用剤組成物。
3. 酸性ヘテロ多糖類が組織培養法によつて得られたものである第1項もしくは第2項記載の外用剤組成物。

4. 酸性ヘテロ多糖類の含有量が0.0001～

1.0重量%である第3項記載の外用剤組成物。

3. 発明の詳細な説明

〔産業上の利用分野〕

本発明は、新規な外用剤組成物に関し、更に詳しくは、チューベローズ(Polianthes tuberosa L.)より組織培養法によつて得られる酸性ヘテロ多糖類を配合し、皮膚の保湿効果、保護効果および柔軟・平滑化などの効果に優れた皮膚、毛髪用化粧品、外用医薬品等の外用剤組成物に関する。

〔従来の技術及びその課題〕

従来、外用剤、特に化粧料用保湿剤としては、グリセリン、ソルビトール等の低分子量物質、ピロリドンカルボン酸ナトリウム等の

NMF (天然保湿因子) 成分などが用いられてきたが、近年、ムコ多糖類をはじめとする生体高分子物質や種々の植物抽出物が保湿剤として利用されている。しかしながら、植物由来の多糖類は増粘剤、ゲル化剤等として用いられているように、保湿機能を発揮するのに十分な量を用いると系が増粘し、肌への感触が悪くなる等の欠点があつた。

一方、ポリアンテス属に属する植物、特にチューペローズは、その油性成分が香料として利用されているが、組織培養法によつて得られる水溶性成分については報告されておらず、また、外用剤、化粧品等に応用された例もない。

〔課題を解決するための手段〕

の酸性ヘテロ多糖類は、例えば以下の方法により得ることができる。

組織培養法：

チューペローズの花等の一部を外植片とし、基本培地に植物ホルモンと炭素源としての糖を加えた培地を用いてカルスを誘導する。このカルスをさらに液体培地にうつして振とう培養し、この培養物から細胞を選別またはろ過によつて除去したのち、濃縮し、濃縮液にエタノールを加えて沈澱させ、沈澱物を凍結乾燥することにより酸性ヘテロ多糖類を得る。

本方法では、外植片として、チューペローズはその花、茎、葉、鱗茎、根等の器官又は組織の一部が使用されるが、就中特に花の一部が好ましい。

斯かる実状において、本発明者らは鋭意研究を行つた結果、チューペローズ由来の成分、就中、組織培養法により得られる、水溶性成分である酸性ヘテロ多糖類を配合した外用剤は、高保湿効果・高平滑効果とともに、滑らかな使用感を有することを見出し本発明を完成した。

すなわち、本発明は、ポリアンテス属 (Polianthes L.) に属する植物より得られる、アラビノース、マンノース、ガラクトース、キシロースおよびグルクロン酸を構成成分とする酸性ヘテロ多糖類を含有することを特徴とする外用剤組成物を提供するものである。

本発明において用いるチューペローズ由来

カルス誘導用の基本培地としては、植物組織培養に通常用いられる Murasige-Skoog の培地、Linsmaier-Skoog の培地、Gamborg の培地、White の培地、Tulecke の培地、Nitsch & Nitsch の培地などが用いられうる。

この基本培地には植物ホルモンを添加する必要がある、植物ホルモンとしては、2, 4-ジクロロフェノキシ酢酸 (2, 4-D)、 α -ナフタレン酢酸 (NAA)、インドール酢酸 (IAA)、インドール酪酸 (IBA) 等のオーキシニン類；フルフリルアミノプリン (カイネチン)、ベンジルアデニン (BA)、ジメチルアミノプリン (2iP) 等のサイトカイニン類が挙げられる。その中でも、2, 4-D 単独、もしくは NAA と BA の組合わせ、または

NAA とカイネチンの組合わせが良好な結果を与える。カルス誘導に必要な植物ホルモン濃度は、2, 4-D 単独の場合は 5×10^{-6} M から 1×10^{-7} M、NAA と BA または NAA とカイネチンの組合わせの場合は、NAA の濃度は 5×10^{-6} M から 1×10^{-7} M、BA またはカイネチンの濃度は 1×10^{-6} M から 1×10^{-7} M である。

カルス誘導培地には上記の基本培地と植物ホルモンのほかに炭素源として糖が加えられる。糖としては、グルコース、フラクトース、マンノース、キシロース、サツカロース、ラムノース、フコース、デンプンなどが挙げられるが、通常はサツカロースが用いられる。

カルス誘導は固体培地でも液体培地でも可

能であるが、通常は固体培地が用いられる。

誘導されたカルスは上記のカルス誘導培地で同じ形態を維持したまま10代以上にわたって継代培養をすることができる。継代培養用の培地としては、通常基本培地として Linsmaier-Skoog の培地、Murasige-Skoog の培地、植物ホルモンとして 1×10^{-6} ~ 1×10^{-7} M の 2, 4-D または 1×10^{-6} ~ 1×10^{-7} M の NAA と 1×10^{-6} ~ 1×10^{-7} M の BA、炭素源としては、グルコース、フラクトース、マンノース、キシロース、サツカロース、ラムノース、フコース、デンプン等が用いられるが、就中サツカロースが好ましく、その添加量は1~6%が好ましい。

カルスから多糖類を製造するには、カルスは NAA と BA もしくはカイネチンを組合わせて用いるのが好ましい。その濃度は、2, 4-D 又は NAA を単独で用いる場合は 5×10^{-6} M から 1×10^{-7} M、特に 5×10^{-6} M から 5×10^{-6} M が；NAA と BA または NAA とカイネチンを組合わせて用いる場合には、NAA の濃度は 1×10^{-6} M から 1×10^{-7} M、特に 1×10^{-6} M から 5×10^{-6} M、BA またはカイネチンの濃度は 5×10^{-6} M から 1×10^{-7} M、特に 1×10^{-6} M から 1×10^{-7} M が好ましい。

植物ホルモンの種類及び濃度は多糖類の生産性に関係があり、例えば2, 4-D、NAA、IAA、IBA等のオーキシニン類；カイネチン、BA、2iP等のサイトカイニン類；ジベレリン A_3 (GA_3) 等のジベレリン類等が使用される。この中で、2, 4-D、NAAを単独で、また

炭素源としては、グルコース、フラクトース、マンノース、キシロース、サツカロース、ラムノース、フコース、デンプンなどが用いられる。多糖類の生産は添加する炭素源の種類にはあまり強く影響されるものではなく、

通常サツカロースが用いられる。炭素源の濃度と多糖類の生産量との間にもあまり深い関係はないが、一般には1~6%が好ましい。

培養法は特に制限されないが、通常、20~30℃の温度で15~30日間行うのが好ましく、また振とう培養が好ましい。

このようにして得られた培養物から多糖類を採取するには、例えば培養物から細胞を遠沈又はろ過等によつて除去したのち、培養液をロータリーエバポレーター等を用いて濃縮し、濃縮液にエタノールを加えて沈殿させ、沈殿物を凍結乾燥することによつて行われる。

本発明の外用剤組成物に配合する酸性ヘテロ多糖類の量は0.0001~10重量%（以下「%」で示す）、好ましくは0.001~5%であ

る。例えば水/油、油/水型乳化化粧料、クリーム、化粧乳液、化粧水、油性化粧料、口紅、ファンデーション、ヘアートニック、整髪剤、養毛剤、育毛剤等の皮膚化粧料とすることができる。

これらの外用剤の調製に当り、好適に用いられる油としては、例えば流動パラフィン、パラフィンワックス、セレシン、スクワラン等の炭化水素；密ロウ、蜂ロウ、カルナバロウなどのワックス類；オリーブ油、桐油、ホホバ油、ラノリンなどの天然動植物油脂；シリコーン油、脂肪酸、高級アルコールおよびこれらを反応して得られるエステル油等が挙げられる。

また、界面活性剤としては、ポリオキシエ

テル。この配合量が0.0001%未満では、その効果が充分発揮されず好ましくない。

本発明の外用剤組成物は、その使用形態において、薬用皮膚外用剤と化粧料に大別される。

薬用皮膚外用剤としては、例えば薬効成分を含有する各種軟膏剤を挙げることができる。軟膏剤としては、油性基剤をベースとするもの、油/水、水/油型の乳化系基剤をベースとするもののいずれであつてもよい。薬効成分としては、特に制限はなく、例えば鎮痛消炎剤、鎮痒剤、殺菌消毒剤、収斂剤、皮膚軟化剤、ホルモン剤等を必要に応じて適宜使用することができる。

また、化粧料としては、種々の形態、例え

ば、モノアルキルエーテル、ポリオキシエチレン脂肪酸エステル、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル、ポリオキシエチレンソルビトール脂肪酸エステル、ポリオキシエチレン硬脂化ヒマシ油アルキル硫酸エステル、ポリオキシエチレンアルキル硫酸エステル、アルキルリン酸エステル、ポリオキシエチレンアルキルリン酸エステル、脂肪酸アルカリ金属塩、ソルビタン脂肪酸エステル、グリセリン脂肪酸エステル等が用いられる。また、本発明の乳化組成物には更に各種任意成分を配合することができ、例えば粘度調整剤としてポリビニルアルコール、カルボキシビニルポリマー、カルボキシメチルセルロース、ポリビニルピロリドン、ヒドロキシエチルセル

ローズ、メチルセルローズなどの高分子化合物；ゼラチン、タラカントガムなどの天然ガム類；エタノール、イソプロパノール等のアルコール類が、保湿剤としてはプロピレングリコール、グリセリン、1,3-ブチレングリコール、ジプロピレングリコール、ソルビトール、乳酸、乳酸ナトリウム、ピロリドンカルボン酸ナトリウム等が、さらに防腐剤としてはパラオキシ安息香酸エステル、安息香酸、安息香酸ナトリウム、ソルビン酸、ソルビン酸カリウム、フェノキシエタノール等がそれぞれ挙げられる。

〔発明の効果〕

本発明の外用剤組成物は、チューベローズ由来の酸性ヘテロ多糖類を配合することによ

0.8%の寒天を含む Linsmaier-Skoog の培地を用いた。植物ホルモンとしてはオーキシンとして 10^{-5} M、NAA と サイトカイニンとして 10^{-6} M BA を添加した。炭素源としては 3% サッカロースを添加した。この培地を 0.1 N KOH で pH 5.7 に調整したのち、オートクレーブにより 120℃、1.2 気圧で 15 分間滅菌した。培養は電照下 25 ± 1 ℃で行われた。30～60 日間の培養の後それぞれの外植片からはカルスが誘導された。

(b) カルスの継代：

(a) において誘導されたそれぞれのカルスは、誘導培地と同一の培地を用いて同一条件下で培養され、30 日おきに新しい培地に移植された。

り、保湿効果に優れ、滑らかな使用感を有する。

〔実施例〕

次に実施例を挙げて本発明を更に詳細に説明する。

実施例 1

酸性ヘテロ多糖類の製造：

(a) カルスの誘導：

開花 2～7 日前のチューベローズ茎を切り取り、70% エタノール溶液で 1 分間滅菌し、さらに 1% 次亜塩素酸ナトリウム溶液で 10 分間滅菌した後、滅菌水で洗浄した。滅菌処理された外植片を適当な大きさにきり、カルス誘導用培地に接種した。

カルス誘導用培地には、基本培地として

(c) 振とう培養：

(b) において 10 代以上継代培養されたカルスについて、上記カルス培養培地と同様の成分からなる液体培地を用いて振とう培養を行った。培地の量は、200 ml 容の三角フラスコ当たり 80 ml とした。カルスは新鮮重で 2 g を接種し、 25 ± 1 ℃、120 rpm で 30 日間振とう培養した。

(d) 多糖類の採取方法：

(c) の培養液から遠心分離またはろ過により細胞を除き、培養液をロータリーエバポレーターを用いて濃縮した。この濃縮培養液に約 3 倍量のエタノールを加え、5℃で 24 時間静置し沈澱を得た。この沈澱を遠心分離により回収し、70% エタノールで洗浄した後凍

結乾燥により水分を除去した。

上記の方法により、チューベローズカルスから191g/1/30日の細胞外多糖類が得られた。この多糖類は次のような物性を有していた。

外観：白色～灰白色粉末

糖含量（フェノール硫酸法及びカルパソール法による）：80%〔うちウロン酸（グルクロン酸）含量25%〕

構成糖：アラビノース：ガラクトース：マンノース：キシロース＝10：5：4：1

タンパク含量：2%

水分含量：5%

分子量：10,000～20,000,000

(9) 香料 0.05 0.05

精製水 88.1 88.6

(製法)

精製水に(1)、(2)、(3)、(5)、(6)を加温溶解し、室温に戻した後、エタノールに(4)、(8)、(9)を溶解したものをゆつくり加えて可溶化し、ろ過して化粧水を得た。

(保湿効果測定法)

実施例2で得た化粧水と比較品とを用いて、保湿効果試験を行った。すなわち健康人の前腕部に本発明および比較の化粧水を20μl/4cm²塗布し、1時間後の角層水分量を測定した(N=5、測定装置：IBS社製SKICON-200)。

(使用テスト方法)

実施例2

化粧水：

下記に示す処方、製法により化粧水を調製し、その保湿効果及び使用感を調べた。結果を第1～2表に示す。

(処方)

	本発明品 (%)	比較品 (%)
(1) 酸性ヘテロ多糖類 (実施例1)	0.5	—
(2) 1,3-ブチレンジグリコール	2.5	2.5
(3) グリセリン (86%)	0.5	0.5
(4) ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油 (40E.O.)	0.5	0.5
(5) 乳 酸	0.05	0.05
(6) 乳酸ナトリウム	0.7	0.7
(7) エタノール	7.0	7.0
(8) メチルパラベン	0.1	0.1

20～35才の女性20名に対し、使用中の滑らかさとその持続性、べたつき、しっとり感の項目について、本発明品と比較品の使用テスト（コンペア評価）を行った。

(結果)

① 保湿効果

第1表

	角層水分量相対値
無塗布	1.00
本発明品	1.62
比較品	1.43

本発明品塗布部位の水分量は、比較品塗布部位より明らかに増加しており、チューベローズ由来多糖類配合化粧水の高い保湿効果が

確認された。

② 使用テスト

第 2 表

	本発明品	比較品
使用中の滑らかさ(強い)	100 (%)	0 (%)
滑らか感の持続性(持続する)	90	5
べたつき(べたつく)	35	20
しつとり感(強い)	60	15

チューペローズ由来多糖類を配合した本発明の化粧水は、使用中の滑らかさとその持続性が顕著であり、しつとり感が強いわりにはべたつきが少ないという特徴的な使用感があった。

実施例 3

(製法)

(1)~(8)、12を加熱溶解し、70℃に保つ

(油相)。(9)~11を精製水に加熱溶解し、徐々に油相に加えて乳化し、徐冷して乳液を得た。

実施例 4

クリーム:

(処方)

	(%)
(1)ワセリン	8.0
(2)ラノリン	2.0
(3)スクワラン	20.0
(4)セタノール	5.0
(5)モノステアリン酸グリセリン	2.0
(6)ポリオキシエチレンモノラウリン酸ソルビタン(20E.O.)	2.0
(7)エチルパラベン	0.2

乳 液:

(処方)

	(%)
(1)流動パラフィン	4.0
(2)スクワラン	4.0
(3)セタノール	0.5
(4)ステアリン酸	1.5
(5)モノオレイン酸ソルビタン	1.0
(6)モノオレイン酸ポリオキシエチレンソルビタン(20E.O.)	1.0
(7)モノステアリン酸グリセリン	0.5
(8)エチルパラベン	0.2
(9)グリセリン	3.0
10 1,3-ブチレングリコール	5.0
11 酸性ヘテロ多糖類(実施例1)	0.3
12 香 料	0.05
13 精 製 水	78.95

(8) 酸性ヘテロ多糖類(実施例1)	0.5
(9) グリセリン(86%)	5.0
10 1,3-ブチレングリコール	5.0
11 香 料	0.1
12 精 製 水	50.2

(製法)

(1)~(7)と11を加熱溶解し、70℃に保つ

(油相)。(8)~10を精製水に加熱溶解したものに、攪拌しながら油相を加える。ホモミキサー処理した後、急冷してクリームを得た。

実施例 5

パ ン ク:

(処方)

	(%)
(1)ポリビニルアルコール	18.0
(2)ポリエチレングリコール	2.0

(3) 1,3-ブチレングリコール	5.0	(3) グリセリン (86%)	15.0
(4) 酸性ヘテロ多環類 (実施例1)	0.5	(4) ポリエチレングリコール	5.0
(5) エタノール	8.0	(5) ポリオキシエチレンヘキサデシル エーテル (20 B.O)	0.1
(6) メチルパラベン	0.1	(6) クエン酸	0.05
(7) 香 料	0.05	(7) クエン酸ナトリウム	0.5
(8) 精 製 水	66.35	(8) メチルパラベン	0.2
(製 法)		(9) 香 料	0.1
		10 精 製 水	58.05

精製水に(2)(3)(4)、(6)を加え、攪拌溶解し、次にポリビニルアルコールを加え、加熱攪拌する。ここに香料を溶解したエタノールを加えて、溶解してパックを得た。

(1)~(8)を精製水に加熱溶解したものに、(9)を加えて可溶化し、エッセンスを得た。

以 上

実施例 6

エッセンス：

(1) 酸性ヘテロ多環類 (実施例1)	1.0	(%)
(2) 1,3-ブチレングリコール	20.0	